

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kadar gula darah merupakan suatu parameter yang menunjukkan kondisi hiperglikemia ataupun hipoglikemia. Hiperglikemia merupakan keadaan atau kondisi kadar gula darah (glukosa) dalam darah tinggi, sedangkan hipoglikemia menunjukkan keadaan kadar gula darah rendah. Penyebab terjadinya hiperglikemia adalah adanya defisiensi insulin. Dalam keadaan hiperglikemia, kapasitas sekresi insulin menjadi lemah sehingga produksi insulin semakin berkurang. Menurut World Health Organization (WHO) dalam kondisi hiperglikemia kadar gula darah memiliki rentang nilai antara 100-126 mg/dL dan termasuk kedalam keadaan toleransi abnormal glukosa. Keadaan hiperglikemia dapat menjadi suatu kondisi diabetes apabila tidak terjadi penurunan kadar gula darah dalam beberapa kali pengecekan (PERKENI, 2015).

Diabetes melitus (DM) atau yang biasa dikenal sebagai penyakit kencing manis merupakan ancaman yang besar dalam kehidupan manusia, karena dilihat dari prevalensi diabetes melitus diperkirakan sebesar 2,8% diseluruh dunia (171 juta orang menderita diabetes melitus) dan diprediksikan akan meningkat hingga mencapai 4,4% (366 juta menderita diabetes melitus) pada tahun 2030. Diabetes melitus di Indonesia menjadi salah satu masalah kesehatan bagi masyarakat setiap tahunnya, pada tahun 2000 dilaporkan di Indonesia terdapat 8,4 juta jiwa penderita diabetes. Jumlah ini diprediksi akan mencapai 21,3 juta jiwa dan menduduki peringkat keempat

setelah India, China, dan Amerika Serikat pada tahun 2030 (wild et al., 2014). Diabetes juga telah masuk dalam daftar “penyakit Asia” (sustrani dkk, 2006). Peristiwa ini dapat dikaitkan dengan berbagai factor, diantaranya gaya hidup penuh tekanan dan kebiasaan diet yang tidak sehat (Thandra, 2008).

Meskipun diabetes kini dapat dikontrol secara klinis dengan menggunakan injeksi insulin, tetapi penanganan ini tidak bersifat menyembuhkan dan memberikan rasa tidak nyaman pada saat pemakaian serta dalam jangka waktu lama dapat menyebabkan sejumlah komplikasi klinis. Pengobatan dengan injeksi insulin dan antidiabetik oral tidak memberikan derajat pengontrolan yang sama seperti fungsi kontrol kadar glukosa darah oleh sel β pankreas dan tidak dapat mencegah konsekuensi yang merugikan sebagai akibat penyakit diabetes (Yi *et al.*, 2013). Kadar gula darah juga dapat dikontrol menggunakan tanaman-tanaman herbal yang terdapat di alam.

Indonesia memiliki alam yang menyediakan beragam tanaman obat berkhasiat yang dapat digunakan untuk mengatasi berbagai macam penyakit. Tanaman-tanaman yang diduga berkhasiat untuk pengobatan, sebenarnya telah digunakan secara tradisional (Subroto, 2006). Beberapa tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat diabetes yaitu buah pare (Setiawi, 2012), daun mangga (Sharma dkk, 2013) dan daun senduduk (Agustin dkk, 2021).

Manfaat tanaman senduduk beberapa masyarakat memanfaatkan daun senduduk secara tradisional antara lain dengan cara dikunyah, ditumbuk, dan dioleskan pada luka dengan tujuan untuk menghentikan pendarahan. Daun

dikonsumsi untuk mengobati infeksi, tekanan darah tinggi dan antidiabetes. Senduduk juga dapat digunakan untuk mengobati bisul, tukak lambung, bekas luka, kencing manis, jerawat dan bintik hitam dikulit (Joffry et al, 2012).

Pada penelitian (Agustin dkk, 2021) pada tikus putih jantan diberikan ekstrak daun senduduk dengan perlakuan dosis yang berbeda yaitu 50 mg, 100 mg , 200 mg/200 mg BB. Hasil penelitian menunjukkan adanya efek hipoglikemik ekstrak daun senduduk (*Melastoma malabathricum L.*) terhadap tikus putih jantan pada 200 mg/kg BB. Adanya penurunan kadar gula pada ekstrak daun senduduk (*Melastoma malabathricum L*) diperkirakan karna adanya senyawa flavonoid dan saponin. Tetapi pada penelitian ini belum diketahui senyawa spesifik yang dapat menurunkan kadar glukosa darah. Dengan penggunaan metode fraksi dalam pemisahan senyawa pada daun senduduk diharapkan bisa mengetahui kandungan senyawa yang spesifik dalam menurunkan kadar gula darah.

Dari uraian diatas peneliti tertarik untuk mengambil judul efek antihipoglikemik pada fraksi n-butanol daun senduduk (*Melastoma malabathricum L.*) dalam menurunkan kadar glukosa mencit putih jantan yang diinduksi aloksan.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah fraksi n-butanol daun senduduk (*Melastoma malabathricum L.*) memberikan efek dalam menurunkan kadar glukosa darah mencit yang diinduksi dengan aloksan?

2. Apakah variasi dosis fraksi n-butanol daun senduduk (*Melastoma malabathricum L.*) memberikan efek dalam menurunkan kadar glukosa dalam darah mencit yang diinduksi aloksan?
3. Apakah lama pemberian fraksi n-butanol daun senduduk (*Melastoma malabathricum L.*) memberikan efek dalam menurunkan kadar glukosa didalam darah mencit yang diinduksi aloksan?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui efek fraksi n-butanol daun senduduk (*Melastoma malabathricum L.*) dalam menurunkan kadar glukosa darah mencit yang telah diinduksi aloksan.
2. Untuk mengetahui efek variasi dosis fraksi n-butanol daun senduduk (*Melastoma malabathricum L.*) dalam menurunkan kadar glukosa darah mencit yang diinduksi aloksan.
3. Untuk mengetahui efek lama pemberian fraksi etil asetat daun senduduk (*Melastoma malabathricum L.*) terhadap penurunan kadar glukosa darah mencit yang diinduksi dengan aloksan.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Penelitian ini dapat membuktikan efek daun senduduk (*Melastoma malabathricum L.*) dalam menurunkan kadar glukosa darah pada mencit yang diinduksi dengan aloksan, sehingga dapat menjadikan alternatif dalam pengobatan penyakit diabetes melitus .

2. Penelitian ini dapat membuktikan pengaruh variasi dosis fraksi etil asetat daun senduduk (*Melastoma malabathricum L.*) dalam menurunkan kadar glukosa darah mencit yang diinduksi aloksan.
3. Penelitian ini dapat membuktikan pengaruh lama pemberian fraksi etil asetat daun senduduk (*Melastoma malabathricum L.*) terhadap penurunan kadar glukosa darah mencit yang diinduksi dengan aloksan.

BAB II.TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Botani

2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan Daun Senduduk



Gambar 1. Tanaman Daun Senduduk (*Malastoma malabathricum L*)

Berdasarkan tata nama (sistematika) botani tumbuhan daun senduduk (*Malastoma malabathricum L*) dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Dalimartha, 2006).

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Kelas : Dicotyledoneae

Ordo : Myrtales

Famili : Melastomataceae

Genus : Melastoma

Spesies : *Melastoma Malabathricum L.*

2.1.2 Nama Daerah dan Penyebarannya

Tumbuhan *M. malabathricum* yang dikenal dengan senduduk atau sikaduduak (Minang); harendong (Sunda); kluruk, senggani (Jawa) (Burkill, 1966). Senggani memiliki bermacam-macam nama di berbagai daerah seperti senggani, kluruk (Jawa), harendong (Sunda), senduduk (Melayu). Tanaman ini dikenal sebagai *singapore rhododendrom* di Inggris dan *yeh mu tan* di Cina (Hariana, 2006)

2.1.3 Morfologi Daun Senduduk

Daun senggani merupakan daun tunggal bertangkai pendek, rapuh; helaian daun utuh bentuk jorong atau bundar telur sampai memanjang, panjang 3 cm sampai 20 cm, lebar 1 cm sampai 8 cm, ujung umumnya runcing, pangkal membundar, pinggir rata, tulang-tulang cabang besar melengkung dari pangkal ke ujung, tulang-tulang cabang kecil menyirip, penulangan menonjol pada permukaan bawah. Kedua permukaan berambut banyak, permukaan atas kasar, permukaan bawah terasa lebih halus, warna kelabu kehijauan pucat (Anonim, 1995).

2.1.4 Manfaat Daun Senduduk

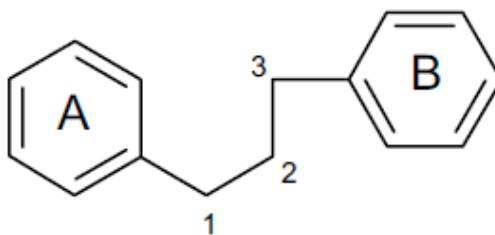
Secara empiris daun senduduk dapat mengobati penyakit disentri, diare, bisul, luka luar dan sariawan. Daun senduduk digunakan untuk pengobatan bisul dan luka luar dengan cara di tumbuk sampai halus kemudian hasil tumbukan di tempelkan pada bagian bisul atau luka luar. Khasiat dari tumbuhan ini dimanfaatkan masyarakat umum sebagai obat sariawan, bisul dan diare (Sari *et all*, 20). Berdasarkan penelitian Marsepriani *et all* (2017) bahwa daun senduduk berkhasiat sebagai obat penurunan panas, penghilang rasa sakit, mengatasi diare dan cacar.

Tumbuhan senduduk juga berfungsi sebagai antibakteri, antioksidan, antiinflamasi, antikanker, antihepatotoksik, antidiabetes dan antiseptik yang berfungsi membunuh atau mencegah pertumbuhan mikroorganisme. Sebagai astringen yang dapat menyebabkan penutupan pori-pori kulit, memperkeras kulit, menghentikan eksudat dan pendarahan yang ringan (Emadan Arsa, 2016).

2.1.5 Tinjauan Kimia Tumbuhan

Berdasarkan penelitian Simanjunta , dan Kusumowati dkk , flavonoid, saponin dan tanin merupakan kandungan dari daun senduduk.

1. Flavonoid
 - a. Monografi

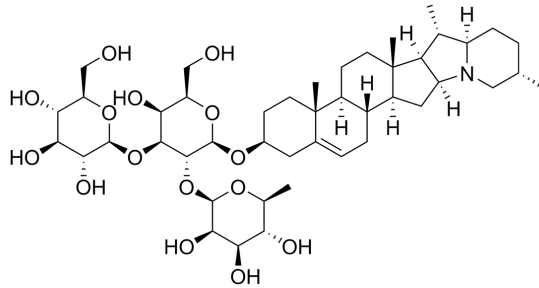


Gambar 2. Struktur Umum Flavonoid (Harnoner, 1987)

Flavonoid termasuk kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru dan sebagian zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon. Dua cincin benzene (C₆) terikat pada suatu rantai propan (C₃) sehingga membentuk suatu susunan C₆-C₃-C₆. Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis struktur, yakni 1,3-diarilpropan atau flavonoid, 1-2-diarilpropan atau isoflavonoid dan 1,1-diarilpropan atau neoflavonoid (Okunande,2002).

2. Saponin

a. Monografi



Gambar 3. Struktur Umum Saponin (Harbone ,1987)

Saponin adalah glikosida triterpene dan sterol yang telah terdeteksi dalam lebih 90 suku tumbuhan. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun, serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuan membentuk busa dan menghemolisis sel darah (Robinson, 1995). Saponin memproduksi cytokines seperti interleukin dan interferons akan bereaksi dengan antigen (benda-benda asing) yang masuk kedalam tubuh (Tizard, 1998).

3. Tanin

Tanin adalah sejenis kandungan tanaman bersifat fenol yang memiliki rasa sepat. Tanin ini larut, setidaknya-tidaknya sampai batas tertentu, dalam pelarut organik yang polar, tetapi tidak larut dalam pelarut organik non polar seperti benzena. Kadar tannin yang tinggi mungkin mempunyai arti pertahanan bagi tanaman yaitu membantu mengusir hewan pemangsa tanaman. Beberapa tannin terbukti mempunyai aktivitas antioksidan , menghambat pertumbuhan tumor, dan menghambat enzim seperti reverse transkriptase dan DNA topoisomerase (Robinson, 1995).

2.1.6 Tinjauan Farmakologi

Pada penelitian Agustin,dkk (2021) ekstrak daun senduduk pada dosis 200 mg/200 grBB memiliki efek hipoglikemik yang mampu menurunkan kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar yang diinduksi aloksan. Adanya penurunan kadar glukosa darah daun senduduk (*Melastoma malabathricum L*) diperkirakan karna kandungan dari beberapa senyawa metabolit sekunder diantaranya senyawa flavonoid dan saponin.

2.1.7 Tinjauan Farmasetik

Daun senduduk (*Malastoma malabathribicum L.*) digunakan masyarakat sebagai bahan obat tradisional dengan cara dikunyah, ditumbuk, dan dioleskan pada luka,. Dari hasil penelitian ekstrak daun senduduk (*Malastoma malabathriculum L*) sebelumnya yang mengandung flavonoid,tanin,saponin, bentuk sediaan dari ekstrak daun senduduk (*Malastoma malabathriculum L*) adalah gel antiseptik (Marlina, dkk.,2020).

2.2 Diabetes Melitus

2.2.1 Definisi

Diabetes melitus merupakan penyakit gangguan metabolisme yang ditandai peningkatan glukosa darah (hiperglikimia), disebabkan karena ketidakseimbangan antara suplai dan kebutuhan insulin. Berkurang atau tidak adanya insulin menjadikan glukosa tertahan di dalam darah, sementara sel menjadi kekurangan glukosa yang sangat dibutuhkan dalam kelangsungan dan fungsi sel (Tarwoto, dkk., 2011). Diabetes melitus merupakan gangguan metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemia yang berhubungan dengan abnormalitas metabolisme karbohidrat,

lemak, dan protein yang disebabkan oleh penurunan sekresi insulin atau penurunan sensitivitas insulin, atau keduanya dan menyebabkan komplikasi kronis mikrovaskular, dan neuropati (Sukandar,dkk,2008).

2.2.2 Klasifikasi DM

Menurut WHO, 1985 dan American Diabetes Association, 2003, penyakit DM diklasifikasikan menjadi:

1. Diabetes melitus Tipe 1

Diabetes melitus tipe 1 atau Insulin Dependent Diabetes Melitus (IDDM) yaitu DM yang bergantung insulin. Diabetes tipe ini terjadi pada 5%-10% penderita DM. Diabetes melitus tipe 1 disebabkan karena kerusakan sel beta pankreas yang menghasilkan insulin. Ketidakmampuan sel beta menghasilkan insulin menghasilkan insulin mengakibatkan glukosa yang berasal dari makanan tidak dapat disimpan dalam hati dan tetap berada dalam darah sehingga menimbulkan hiperglikemia. Pada diabetes tipe ini sangat berisiko terjadinya koma diabetikum, akibat adanya ketoasidosis (Tarwoto, dkk, 2011).

2. Diabetes Melitus Tipe II

Diabetes melitus tipe II atau non Insulin Dependent Diabetes Melitus (NIDDM) yaitu DM yang tidak tergantung pada insulin. Kurang lebih 90% - 95% penderita DM adalah tipe ini. DM tipe 2 terjadi akibat penurunan sensitivitas terhadap insulin (resistensi insulin). DM tipe 2 banyak terjadi pada usia diatas 45 tahun, karena berkembang lambat dan terkadang tidak terdeteksi, tetapi jika gula darah tinggi baru dapat dirasakan seperti kelemahan, iritabilitas, poliuria, polidipsia,

proses penyembuhan luka yang lama, infeksi vagina, kelainan penglihatan. Obesitas juga termasuk salah satu faktor penyebab DM tipe 2 (Tarwoto, dkk.,2011).

3. Diabetes Melitus Gestasional

Diabetes melitus gestasional yaitu DM yang terjadi pada masa kehamilan, dapat diagnosa dengan menggunakan test toleran glukosa, terjadi kira-kira 24 minggu kehamilan. Individu dengan DM gestasional 25% akan berkembang menjadi DM (Tarwoto,dkk.,2011).

4. Diabetes Karena Malnutrisi

Diabetes tipe ini dapat ditegakkan jika terjadi gejala, yaitu malnutrisi, malabsorpsi makanan sehingga memerlukan insulin untuk regulasi DM dan menaikkan berat badan, terjadi pada usia antara 15-40 tahun (Tarwoto, dkk., 2011). Sebagian pasien mengalami nyeri perut yang menjalar ke daerah punggung (pola jalaran nyeri ini mirip dengan pola jalaran nyeri akibat pankreatitis) (Arisman, 2011).

5. Diabetes Sekunder

Yaitu DM yang berhubungan dengan keadaan tertentu, misalnya pankreas (pankreatitis, neoplasma, trauma/pancreatectomy), endokrinopati (akromegali, Cushing's syndrome, pheochromocytoma, hyperthyroidism), obat-obatan atau zat kimia (glukokortikoid, hormon tiroid, dilantin, nicotinic acid), penyakit infeksi seperti kongenital rubella, infeksi cytomegalovirus, serta syndrome genetic diabetes seperti Syndrome Down (Tarwoto,dkk., 2011).

2.2.3 Patofisiologi Diabetes Melitus

Diabetes mellitus adalah suatu penyakit dimana kadar glukosa di dalam darah tinggi karena tubuh tidak dapat melepaskan atau menggunakan insulin secara cukup sehingga mengakibatkan terjadinya penumpukan gula dalam darah yang menyebabkan terjadinya hiperglikemia. Glukosa secara normal bersirkulasi dalam jumlah tertentu dalam darah. Glukosa dalam tubuh dibentuk di dalam hati dari makanan yang dikonsumsi ke dalam tubuh. Insulin merupakan hormon yang diproduksi oleh pankreas yang berfungsi untuk memfasilitasi atau mengendalikan kadar glukosa dalam darah dengan mengatur produksi dan penyimpanannya.

Defisiensi insulin ini menyebabkan penggunaan glukosa dalam tubuh menurun yang akan menyebabkan kadar glukosa darah dalam plasma tinggi atau hiperglikemia. Keadaan hiperglikemia ini akan menyebabkan terjadinya glukosuria dikarenakan glukosa gagal diserap oleh ginjal ke dalam sirkulasi darah dimana keadaan ini akan menyebabkan gejala umum diabetes mellitus yaitu polyuria, polydipsia, dan polyphagia. (Kerner and Brückel, 2014 ,Ozougwu, 2013)

2.2.4 Manifestasi

Pada penderita DM biasanya terjadi peningkatan frekuensi buang air kecil (poliuria), meningkatkan rasa haus (polidipsia), meningkatnya rasa lapar (polipagia), penurunan berat badan, kelainan pada mata atau penglihatan kabur, kelemahan dan keletihan tanpa gejala (Tarwoto,dkk.,2011).

Penderita DM tipe 1 biasanya memiliki tubuh yang kurus dengan hasil tes antibodi bernilai 50-80% (WHO 1994). Sedangkan pasien DM tipe II sering asimtomatik dan munculnya komplikasi sering mengindikasikan bahwa pasien telah

menderita DM selama bertahun-tahun yang diikuti kondisi neuropati (Sukandar,dkk.,2008).

2.2.5 Diagnosis

Menurut Asosiasi Diabetes Amerika (ADA) tahun 1997 untuk mendiagnosa diabetes melitus sebagai berikut (Tarwoto,dkk., 2011)

- a. Adanya tanda dan gejala DM serta kadar glukosa darah acak (sewaktu-waktu) ≥ 200 mg/dl
- b. Hasil Glukose Toleran Test (GTT) ≥ 200 mg/dl 2 jam setelah larutan glukosa diberikan sebanyak 75 g per oral. Kadar glukosa darah saat puasa ≥ 126 mg/dL.
- c. Kadar glukosa darah normal (tidak menderita diabetes melitus) Ketika puasa < 110 mg/dL.

Kriteria diagnosis DM (konsensus Perkeni 2015) :

1. Pemeriksaan glukosa plasma puasa ≥ 126 mg/dl. Puasa adalah kondisi tidak ada asupan kalori minimal 8 jam
2. Pemeriksaan glukosa plasma ≥ 200 mg/dl 2 jam setelah Tes Toleransi Glukosa Oral (TTGO) dengan beban glukosa 75 gram
3. Pemeriksaan glukosa plasma sewaktu ≥ 200 mg/dl dengan keluhan klasik (poliuria, polidipsia, polifagia, dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan sebabnya)
4. Pemeriksaan HbA1c $\geq 6,5\%$ dengan menggunakan metode yang terstandarisasi oleh National Glycohaemoglobin Standarization Program (NGSP).

Adapun pemeriksaan yang dapat dilakukan antara lain :

1. Pemeriksaan Penunjang

Pemeriksaan penyaring ditujukan pada mereka yang mempunyai risiko DM namun tidak menunjukkan gejala DM. Pemeriksaan penyaring bertujuan untuk menemukan pasien dengan DM, TGT (Toleransi Glukosa Terganggu), maupun GDPT (Glukosa Darah Puasa Terganggu), sehingga dapat ditangani lebih dini secara tepat. Pasien dengan TGT dan GDPT disebut juga sebagai intoleransi glukosa yang merupakan tahapan sementara menuju DM. Pemeriksaan penunjang dapat dilakukan melalui kadar glukosa darah sewaktu atau kadar glukosa darah puasa. Apabila pada pemeriksaan ditemukan hasil positif, maka perlu dilakukan konfirmasi dengan pemeriksaan glukosa plasma puasa atau dengan tes toleransi glukosa oral (TTGO) standar (Perkeni, 2006).

2. Kadar Glukosa Darah Puasa

Kadar glukosa darah puasa normal manusia pada waktu pagi hari adalah 80-115 mg/dL. Apabila kadar glukosa darah puasa ini berada diatas normal, maka itu merupakan diagnosa awal penyakit diabetes melitus.

3. Glukosa Urin

Pemeriksaan kadar glukosa dalam urin (glukosuria) merupakan salah satu uji kuantitatif secara klinis. Apabila kadar glukosa darah manusia melebihi ambang batas ginjal terhadap glukosa yaitu 180 mg/dl, maka glukosa tidak dapat direabsorpsi dan akan diekskresikan melalui urin dalam jumlah besar, sehingga uji bisa digunakan untuk diagnosa kadar glukosa darah (Guyton & Hall, 2006).

2.2.6 Terapi Diabetes Melitus

Penatalaksanaan DM dengan Terapi non farmakologis meliputi perubahan gaya hidup dengan meningkatkan aktivitas jasmani, mengatur asupan makanan atau manajemen diet, serta terapi farmakologis berupa pemberian obat antidiabetes oral dan atau pemberian hormone insulin. Terapi farmakologis dipilih apabila terapi non farmakologis telah dilakukan tetapi tidak dapat mengendalikan kadar glukosa darah (Tarwoto,dkk.,2011).

Terapi Farmakologis yang dapat digunakan sebagai terapi diabetes melitus yaitu:

1. Pemberian hormon insulin

Tujuan pemberian insulin yaitu menurunkan tekanan gula darah dengan meningkatkan transport glukosa ke dalam sel dan menghambat konversi glikogen dan asam amino menjadi glukosa (Tarwoto,dkk.,2011).

2. Obat golongan sulfonilurea

Mekanisme kerja sulfonylurea adalah menstimulasi pelepasan insulin dari sel β -pankreas dan meningkatkan sekresi insulin akibat rangsangan glukosa. Dikenal dua generasi sulfonil urea. Generasi pertama terdiri dari tolbutamid,tolazamide, aseoheksamid, dan klorpropamid. Generasi kedua memiliki potensi hipoglikemik yang lebih besar, yaitu glibenklamid, glipizid, gliklazid, dan glimepirit (Tjay dan Rahardja, 2007).

3. Binguanid

Binguanid bekerja dengan menghambat produksi glukosa di hepar dan meningkatkan sensitivitas sel otot insulin. Contoh obat golongan biguanid yaitu metformin (Tarwoto,dkk., 2011).

4. Tiazolidindion

Tiazolidindion memicu perubahan proses transkrip genetik dalam inti sel otot yang membuat sel lebih sensitif terhadap insulin. Tiazolidindion juga menghambat hepar memproduksi glukosa. Obat yang termasuk kedalam golongan ini adalah pioglitazon, rosiglitazon, dan glitazon (Tarwoto,dkk., 2011).

5. Penghambat α -glukosidase

Yang termasuk golongan ini yaitu akarbose dan miglitol (derivate piperdintriol), bekerja dengan menurunkan absorpsi karbohidrat dengan menghambat enzim α -glukosidase pada usus (Tarwoto, dkk., 2011).

2.3 Metode Uji AntiDiabetes

2.3.1 Metode Uji Toleransi Glukosa Oral

Prinsip uji toleransi glukosa oral yaitu, hewan uji dipuasakan selama 16-20 jam dan tetap diberi minum, kemudian diambil cuplikan darah sebagai kadar glukosa awal dan dilanjutkan dengan diberikan sediaan obat secara oral. Hewan uji diberikan larutan glukosa secara oral. Pengambilan cuplikan darah diulangi pada waktu-waktu yang telah ditentukan (Etuk, 2010).

2.3.2 Metode Uji Dengan Merusak Pankreas

Metode ini dilakukan dengan pemberian zat dibetogenik yang dapat merusak pankreas hewan uji sehingga tidak dapat menghasilkan hormon insulin dan memiliki kondisi sama seperti penderita diabetes mellitus. Prinsip metode ini yaitu dengan

memberikan zat diabetogenik seperti alloksan secara parental. Pemberian zat uji dilakukan tujuh hari setelah pemberian alloksan (Etuk, 2010).

2.4 Metode Pemeriksaan Kadar Glukosa Darah

2.4.1 Metode Enzimatis

Pada metode ini menggunakan enzim-enzim yang bekerja secara spesifik pada glukosa, sehingga hasil yang didapat relatif lebih tepat dibanding metode lainnya. Enzim yang paling sering digunakan pada analisa glukosa secara enzimatis yaitu heksokinase dan glucose oxidase. Pada metode dengan enzim heksokinase, glucose-6-fosfat yang berasal dari glukosa dan ATP dari heksokinase akan dioksidasi oleh NAD. Reaksi ini dikatalis dengan adanya glucose-6-fosfat dehidrogenasi sehingga akan membentuk NADH yang dapat dianalisa dengan spektrofotometer. Pada metode dengan enzim glucose oxidase, glukosa dioksidasi oleh glucose oxidase membentuk glukonolakton dan hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida selanjutnya teroksidasi oleh peroksidase membentuk senyawa yang dapat dianalisa dengan spektrofotometer (Duxbury, 2004).

2.4.2 Prinsip Kerja Glukometer

Glukometer merupakan alat kesehatan yang digunakan untuk mengukur kadar glukosa darah. Glukometer banyak digunakan di rumah sakit, klinik, ruang gawat darurat, serta penggunaan di rumah. Glukometer memberikan analisa kadar glukosa darah secara cepat, sehingga dapat segera dilakukan manajemen kondisi hipoglikemik atau hiperglikemik yang dialami pasien. Glukometer terdiri dari dua bagian yaitu bagian reaksi enzimatis dan detektor. Bagian enzimatis berada pada strip atau kuvet dalam kondisi terdehidrasi. Glukosa dalam sampel darah akan menghidrasi kemudian

bereaksi dengan enzim dan menghasilkan senyawa yang dapat terdeteksi. Hingga saat ini terdapat tiga reaksi enzimatis yang biasa digunakan pada glukometer antara lain glucose oxidase, glucose dehydrogenase, dan hexokinase. (Toyushkina, 2009).

2.5 Model Diabetes Melitus Pada Hewan Percobaan

2.5.1 Aloksan

Aloksan (2,4,5,6-tetrakis primidin-5,6-dioksida) merupakan senyawa hidrofilik dan tidak stabil. Waktu paruh pada suhu 37 C dan pH netral adalah 1,5 menit dan bisa lebih lama pada suhu yang lebih rendah. Sebagai diabetagonik, aloksan dapat digunakan secara intravena (pembuluh darah vena), intraperitoneal (rongga perut) dan subkutan (jaringan konektif kulit). Dosis intravena yang digunakan biasanya 65 mg/kg bb, sedangkan intraperitoneal dan subkutan adalah 2-3 kalinya (Yani,2014).

Aloksan mempunyai efek patofisiologi berupa selektif dalam menurunkan sekresi insulin yang diinduksi oleh glukosa melalui kemampuannya untuk menghambat sensor glukosa sel beta sehingga terjadi kerusakan sel beta pankreas yang merupakan akibat radikal hidroksil hasil reaksi aloksan dengan tiol intraseluler (glutathione) sehingga dapat menimbulkan nekrosis sel beta pankreas sehingga terjadi insulin dependent aloksan diabetes.

2.5.2 Deksametason

Deksametason termasuk dalam golongan obat kortikosteroid dengan aktivitas glukokortikoid dan mineralokortikoid. Aktivitas deksametason sebagai glukokortikoid mempunyai efek immunosupresan dan anti-inflamasi. Sebagai immunosupresan deksametason bekerja menurunkan respon imun tubuh terhadap stimulasi rangsangan. Sedangkan peran deksametason sebagai antiinflamasi yaitu dengan mencegah atau

menekan respon jaringan terhadap proses inflamasi dan menghambat akumulasi sel yang mengalami inflamasi, termasuk makrofag dan leukosit pada tempat inflamasi. Efek samping dari glukokortikoid adalah lipolisis, glikogenolisis di perifer dan di hepar.

Keadaan ini dapat pula merupakan salah satu penyebab bertambahnya sintesis glukosa yang mengakibatkan peningkatan kadar glukosa darah (hiperglikemia). Pada kasus *Cushing's Syndrom*, kelebihan glukokortikoid menimbulkan banyak masalah seperti resistensi insulin, diabetes, osteoporosis, sepsis dan penyakit kardiovaskuler. Resistensi insulin terjadi karena kelebihan hormon glukokortikoid endogen yang mengganggu ikatan insulin dengan reseptornya sehingga tidak terbentuk sinyal subseluler insulin yang mengakibatkan hambatan perpindahan GLUT-4 dari sitoplasma ke membran plasma (GLUT-4 tidak aktif). GLUT-4 yang tidak aktif tidak dapat menjalankan fungsinya untuk membawa glukosa dari aliran darah ke dalam sel untuk diubah menjadi energi yang mengakibatkan terjadinya peningkatan kadar insulin dan glukosa dalam darah. (Goodman & Gillman, 2008).

2.6 Tinjauan Umum

2.6.1 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses penarikan senyawa kimia dari tumbuhan, hewan dan lain-lain dengan menggunakan pelarut tertentu. Teknik umum yang digunakan dalam proses ekstraksi adalah dengan cara mesarasi, sokletasi, perkolasi dan perebusan. Sedangkan ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani dengan menggunakan pelarut yang cocok, kemudian semua atau hampir semua pelarut. Diuapkan dan massa atau

serbuk tersisa diperlukan sedemikian rupa sehingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Harbone, 1987)

Ekstraksi dengan menggunakan pelarut dapat dibedakan atas 2 cara yaitu (Depkes RI, 2000) :

1. Cara Dingin

- a. Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi sederhana dengan cara merendam bahan alam atau tumbuhan dalam pelarut dan waktu tertentu dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu kamar. Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya. Maserasi ini bertujuan untuk menarik zat-zat berkhasiat dari simplisia, baik simplisia dengan zat yang berkhasiat yang tidak tahan pemanasan maupun yang tahan pemanasan. Menurut Djamel (1990), keunggulan dari maserasi adalah teknik pengerjaannya sederhana dan dapat digunakan untuk semua jenis sampel baik basah maupun kering dan juga sampel yang bersifat termostabil.

- b. Perkolasi

Perkolasi adalah proses ekstraksi dengan cara melewati pelarut secara lambat pada simplisia dalam suatu alat percolator pada suhu kamar. Proses ini terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap meserasi antara tahap

perkolasi sebenarnya (penetesan atau penampungan ekstrak) terus-menerus sampai diperoleh ekstrak atau perkolat yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

2. Cara Panas

a. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada suhu titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna.

b. Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

c. Digestasi

Digestasi adalah meserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada suhu lebih tinggi dari suhu kamar yaitu secara umum dilakukan pada suhu 40°-50°C. Cara ini dilakukan untuk simplisia yang ada pada suhu kamar tidak terekstrak dengan baik.

d. Infusa

Infusa adalah sediaan cair yang dibuat dengan ekstraksi simplisia nabati dengan air pada suhu 90° C selama waktu tertentu (15-20 menit).

e. Dekokta

Dekokta adalah suatu proses ekstraksi yang hampir sama dengan infusa, tetapi dekokta dipanaskan selama 30 menit sampai 90°C. Cara ini dapat dilakukan untuk simplisia yang tidak mengandung minyak atsiri atau simplisia yang mengandung bahan yang tahan terhadap pemanasan.

2.5.2 Fraksinasi

Fraksinasi merupakan tahap kedua dari proses pemurniaan senyawa. Fraksinasi adalah teknik pemisahan dan pengelompokan kandungan kimia ekstrak berdasarkan kepolaran. Pada proses fraksinasi digunakan dua pelarut yang tidak tercampur dan memiliki tingkat kepolaran yang berbeda (Padmawinata,1997).

Umumnya senyawa bahan alam dapat dibedakan atas 3 kelompok berdasarkan kepolarannya. Senyawa-senyawa yang terdapat didalam ekstrak akan terpisah menurut kepolarannya. Senyawa yang bersifat non polar akan tertarik oleh pelarut non polar seperti n-heksana, senyawa semi polar (golongan alkaloid dan terperoid) akan tertarik oleh pelarut yang semi polar seperti etil asetat dan senyawa yang polar (golongan flavonoid dan glikosida) akan tertarik oleh pelarut seperti methanol dan butanol.

Tujuan umum fraksinasi adalah untuk menyederhanakan komposisi dan homogenitas sifat zat sehingga lebih mudah dimurnikan atau diisolasi menjadi senyawa tunggal atau zat murni. Untuk proses fraksinasi berdasarkan tingkat kepolarannya umumnya digunakan pelarut secara berurutan yaitu dari non polar hingga pelarut polar. Proses ekstraksi yang akan dilakukan ditentukan dari kestabilan senyawa yang akan diisolasi (Harbone, 2006).

Fraksinasi cair-cair merupakan suatu teknik dimana suatu larutan (biasanya dalam air) dibuat bersentuhan dengan suatu pelarut kedua (biasanya organik), yang pada dasarnya tak tercampurkan dengan pelarut pertama, dan menimbulkan perpindahan satu atau lebih zat terlarut ke dalam pelarut yang kedua. Pemisahan dapat dilakukan dengan cara mengocok dalam sebuah corong pemisah selama beberapa menit (Basset, 1994).

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan $\pm$ 6 bulan (September-November 2022) Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia (UPERTIS) Padang.

3.2 Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan yaitu desain penelitian eksperimental. Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih jantan dengan umur 2-3 bulan dan berat 20-30 gram sebanyak 30 ekor. Penelitian ini diawali dengan mengekstraksi daun senduduk menggunakan etanol 70% dengan metode maserasi. Ekstrak yang diperoleh difraksinasi lagi menggunakan n-heksan, etil asetat dan butanol, sehingga didapatkan fraksi kental. Setelah itu diberikan pada mencit yang telah mengalami hiperglikemia dengan penginduksian aloksan. Selanjutnya diamati penurunan kadar glukosa darah mencit tersebut dengan menggunakan pembanding glibenklamid.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat gelas (Pyrex), 250 mL tikus, botol air, alat wadah hewan, kapas, tisu, tabung reaksi, spuit injeksi (3 mL, Terumo), sonde oral, *rotary evaporator* IKA^{RV} 10 Basic, timbangan analitik (Precisa®), timbangan tikus triple balance (OHAUS®), wadah meserasi, Erlemeyer (Pyrex®), krus porselen, botol semprot, sarung tangan, pipet tetes, pipet takar (Pyrex®), pipet mikro (Eppendorf®), labu ukur 25mL, 50mL, 100mL (Pyrex®), corong, batang pengaduk, botol kaca, jarum suntik, alat digital Easy Touch® GCU dan strip glukosa darah.

3.3.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah makanan dan minuman mencit, daun senduduk (*Malastamo malabathricum L*), n-heksan, etil asetat, n-buatanol sebagai cairan penyari, glibenklamid, aloksan, aquadest, natrium carboxy methyl cellulose (Na-CMC) , asam sulfat (H_2SO_4), $FeCl_3$, serbuk Mg , Reagen Mayer (kalium 26odide dan merkuri klorida), HCl (Merck).

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Pengambilan sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah daun senduduk (*malastoma malabathricum L*) yang diambil di daerah Lubuk Minturun, Padang.

3.3.2 Identifikasi sampel

Identifikasi sampel dilakukan di Herbarium ANDA Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas (UNAND) Padang Sumatra Barat.

3.3.3 Ekstraksi daun senduduk

Daun tumbuhan senduduk diambil 4 kg sebanyak dicuci bersih, kemudian dikeringkan diudara terbuka pada suhu ruangan dan tidak terkena cahaya matahari langsung. Setelah kering, daun senduduk dihaluskan dengan menggunakan blender hingga menjadi serbuk (simplisia). Kemudian simplisia daun senduduk diekstraksi secara maserasi dengan menggunakan etanol 70% (1:10) dilakukan pengadukan secara kontinyu (2x24 jam). Setelah 5 hari ekstrak tersebut dipisahkan dengan menggunakan kertas saring, lalu dilakukan remaserasi dan maserat hasil pemisahan dikumpulkan. Selanjutnya maserat diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator hingga didapatkan ekstrak etanol kental (Departemen Kesehatan RI, 2000).

3.3.4 Fraksinasi Daun Senduduk

Fraksinasi merupakan tahap kedua dari proses pemurnian senyawa. Fraksinasi adalah teknik pemisahan dan pengelompokkan kandungan kimia ekstrak berdasarkan kepolaran. Pada proses fraksinasi digunakan dua pelarutan yang tidak tercampur dan memiliki tingkat kepolaran yang berbeda (Padmawinata, 1997).

Ekstrak etanol daun senduduk sebanyak 25 g difraksinasi dengan n-heksan dan air dengan perbandingan 1:5 dalam corong pisah, kemudian dikocok. Setelah itu dibiarkan sampai terbentuk dua lapisan yaitu lapisan n-heksan dan lapisan air. Perlakuan ini dilakukan beberapa kali pengulangan sampai lapisan n-heksan terlihat jernih sehingga diperoleh fraksi n-heksan. Lapisan air kemudian difraksinasi dengan etil asetat dilakukan beberapa kali pengulangan seperti perlakuan diatas sehingga diperoleh fraksi etil asetat dan fraksi air. Kemudian fraksi air difraksinasi dengan methanol dilakukan dengan beberapa kali pengulangan sehingga diperoleh fraksi methanol dan fraksi air. Masing-masing fraksi diuapkan dengan rotary evaporator (Aria, Mimi. Et al., 2015).

3.4 Karakterisasi Fraksi Daun Senduduk (*Malabathricum malastoma L*)

3.4.1 Pemeriksaan Organoleptis

Pemeriksaan dilakukan dengan pengamatan visual yang meliputi warna, bentuk, bau dan rasa.

3.4.2 Penentuan Rendemen

Penentuan rendemen dapat dilakukan dengan cara :

1. Rendemen ekstrak = $\frac{A \text{ (g)}}{B \text{ (g)}} \times 100\%$
2. Rendemen fraksi = $\frac{\text{Berat fraksi yang diperoleh}}{\text{Berat ekstrak yang digunakan}} \times 100\%$

Keterangan :

A = Berat sampel awal (g)

B = Berat ekstrak yang diperoleh (g)

3.4.4 Penentuan Susut Pengerinan

Krus porselen dan tutupnya dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit dan biarkan dingin, lalu timbang beratnya. Fraksi sebanyak 1 - 2 gram dimasukkan kedalam krus tersebut dan ditimbang kembali. Kemudian krus digoyang perlahan agar fraksi merata dan masukkan kembali ke dalam oven, buka tutupnya dan biarkan tutup tetap berada di dalam oven. Krus yang berisi fraksi dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 1 jam. Setelah itu krus dikeluarkan dan didinginkan dalam desikator, lalu ditimbang. Perlakuan diatas diulang hingga diperoleh berat yang konstan.

Hitung susut pengerinan dengan rumus :

$$\text{Susut Pengerinan} = \frac{(B-A)-(C-A)}{(B-A)} \times 100\%$$

Keterangan :

A = Berat Krus Kosong

B = Berat Krus + Fraksi Sebelum Pengerinan

C = Berat Krus + Fraksi Setelah Pengerinan

3.4.5 Pemeriksaan Kadar Abu

Krus porselen ditara terlebih dahulu dan timbang. Fraksi sebanyak 1 gram masukkan dalam krus tersebut dan ditimbang. Kemudian pijarkan secara perlahan-lahan dalam furnes pada suhu 600°C selama 2 jam, dinginkan dalam desikator dan timbang.

$$\% \text{Kadar Abu} = \frac{w_2 - w_1}{w_1} \times 100\%$$

Ket:

W = berat krus kosong

W₁ = berat fraksi awal

W₂ = berat krus + fraksi sesudah pemijaran

3.4.6 Uji Fitokimia

Fraksi daun senduduk dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 5 ml aquadest dan 5 ml kloroform, dikocok, dan dibiarkan sampai terbentuk 2 lapisan, lapisan air dan kloroform.

a. Uji Flavonoid (Metode Sianidin Test)

Lapisan air ditetaskan 1-2 tetes pada plat tetes, ditambahkan sedikit serbuk Mg dan setetes HCl_(p), terbentuknya warna merah menandakan adanya flavonoid.

b. Uji Saponin

Lapisan air dikocok kuat-kuat dalam tabung reaksi, terbentuknya busa yang permanen (± 15 menit) menunjukkan adanya saponin.

c. Uji Terpenoid dan Steroid (Metode Simes)

Lapisan kloroform disaring menggunakan pipet tetes yang didalamnya telah terdapat kapas yang dilapisi dengan norit, filtrat diteteskan pada plat tetes lalu biarkan mengering. Residu ditambahkan asam asetat anhidrat, tambahkan asam sulfat pekat, terbentuknya warna merah berarti menunjukkan adanya terpenoid, sedangkan bila terbentuk warna biru-ungu menunjukkan adanya steroid.

d. Uji Alkaloid (Metode Culvenore-Fitzgerald)

Ambil sedikit lapisan kloroform difiltrasi dengan norit, diambil 2-3 tetes filtrate dan biarkan mengering pada plat tetes, setelah kering ditambahkan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat (Pereaksi Lieberman-Bouchard), terbentuknya warna biru atau hijau menandakan adanya steroid, sedangkan bila terbentuk warna merah menunjukkan adanya terpenoid.

e. Uji Fenolik

Lapisan air diteteskan 1-2 tetes pada plat, kemudian tambahkan pereaksi FeCl_3 , terbentuknya warna merah menandakan adanya kandungan fenolik.

3.5 Perlakuan pada hewan

3.5.1 Persiapan Hewan Percobaan

Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih jantan (*Mus musculus L*) sebanyak 30 ekor. Umur mencit yang digunakan berkisar antara 2-3 bulan dengan berat badan ± 20 gram. Sebelum perlakuan hewan percobaan di aklimatisasi selama 7 hari. Hewan yang digunakan untuk penelitian adalah hewan yang belum pernah diperlakukan terhadap obat dinyatakan sehat dengan kriteria tidak cacat secara fisik dan secara visual memperlihatkan perilaku yang normal.

3.5.2 Dosis yang direncanakan

Dosis yang diberikan pada hewan percobaan adalah 100 mg/KgBB, 200 mg Kg/BB, 300 mg/KgBB.

3.5.3 Penginduksian Diabetes Melitus

Hewan coba dibuat hiperglikemia dengan pemberian zat diabetagononik yaitu aloksan dengan dosis 150 mg/kgBB secara intraperitoneal sekali sehari, dimana sebelum penginduksian, mencit dipuasakan selama 16 jam namun tetap diberi minum dan diperiksa kadar glukosa awalnya. Pada hari ke-3 setelah penginduksian, kadar glukosa darah puasa di cek sebagai kadar glukosa hiperglikemia (Dewi,2016).

3.5.4 Penyiapan Suspensi Fraksi Daun Senduduk

Suspensi Na.CMC 0,5% dibuat dengan cara menimbang 0,25 gram Na.CMC ditaburkan di atas air panas sebanyak 20 kalinya di dalam lumpang panas, biarkan selama 15 menit dan digerus hingga membentuk masa homogen. Kemudian timbang fraksi sesuai dengan konsentrasi yang direncanakan, tambahkan suspensi Na.CMC yang telah dibuat lalu digerus hingga homogen. Setelah tersuspensi dengan baik cukupkan volumenya dengan penambahan aquadest hingga 50 ml.

$$\text{Konsentrasi} = \frac{\text{Dosis} \left(\frac{\text{mg}}{\text{KgBB}} \right) \times \text{Berat badan} \left(\frac{\text{g}}{\text{BB}} \right)}{\text{VAO (mL)}}$$

Untuk mencit 20 g :

$$\begin{aligned}\text{VAO} &= 1\% \times \text{BB} \\ &= 1\% \times 20 \text{ g BB} \\ &= 0,2 \text{ mL}\end{aligned}$$

Dosis : 100 mg/kgBB

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi} &= \frac{\text{Dosis} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kgBB}} \right) \times \text{berat badan (grBB)}}{\text{VAO (mL)}} \\ &= \frac{\frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 20 \text{ g}}{0,2 \text{ mL}} \\ &= 10 \text{ mg/mL} \\ &= 100 \text{ mg/10 mL} \\ &= 1000 \text{ mg/100 mL} \\ &= 1,0 \text{ g/100 mL} = 1,0 \%\end{aligned}$$

Dosis : 200 mg/kgBB

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi} &= \frac{\text{Dosis} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kgBB}} \right) \times \text{berat badan (grBB)}}{\text{VAO (mL)}} \\ &= \frac{\frac{200 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 20 \text{ g}}{0,2 \text{ mL}} \\ &= 10 \text{ mg/mL} \\ &= 100 \text{ mg/10 mg} \\ &= 1000 \text{ mg/100 mL} \\ &= 1,0 \text{ g/100 mL} \\ &= 2,0 \%\end{aligned}$$

Dosis : 300 mg/kgBB

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi} &= \frac{\text{Dosis} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kgBB}} \right) \times \text{berat badan (grBB)}}{\text{VAO (mL)}} \\ &= \frac{\frac{300 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 20 \text{ g}}{0,2 \text{ mL}}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &= 30 \text{ mg/mL} \\
 &= 300 \text{ mg/10 mg} \\
 &= 3000 \text{ mg/100 mL} \\
 &= 3,0 \text{ g/100 mL} \\
 &= 3,0 \%
 \end{aligned}$$

3.6 Pembuatan Sediaan Uji dan Pembanding

3.6.1 Pembuatan Larutan Glibenklamid sebagai Pembanding

Sebagai pembanding digunakan glibenklamid dengan dosis pada manusia 5 mg/kg BB yang dikonversikan ke mencit yaitu dosis untuk setiap 20 gram BB mencit setara dengan 0,0026 kali dosis manusia, sehingga dosis yang digunakan adalah :

$$5 \text{ mg} \times 0,0026 = 0,013 \text{ mg/20 g BB}$$

- Sediaan stok yang mau dibuat 70 ml

$$= \frac{70 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 0,013 = 9,1 \text{ mg}$$

- Tablet glibenklamid yang diambil

-ambil 20 tablet

-hitung rata-rata 1 tablet

- Maka berat serbuk glibenklamid yang diambil

$$= \frac{0,1693 \text{ gram}}{5 \text{ mg}} \times 9,1 \text{ mg}$$

$$= 0,308 \text{ gram}$$

$$= 308 \text{ mg}$$

- Gerus 20 tablet timbang 308 mg lalu suspensi menggunakan NaCMC

0,5% sampai 70 ml

3.6.2 Pembuatan larutan aloksan

Hewan coba dibuat hiperglikemia dengan pemberian zat diabetagonik yaitu aloksan dengan dosis 150 mg/kg bb secara intraperitoneal sekali sehari, dimana sebelum penginduksian, mencit dipuasakan selama 16 jam namun tetap diberikan minum dan diperiksa kadar glukosa awalnya. Pada hari ke 4 setelah penginduksian, kadar glukosa darah puasa dicek sebagai kadar glukosa hiperglikemia.

Diinduksi aloksan 150 mg/kgBB= 3 mg/20 gramBB

VAO = 1% bb mencit

$$= 1\% \times 20 \text{ gr}$$

$$= 0,2\text{ml}$$

$$\text{Konsentrasi} = \frac{3 \text{ mg} \times 20 \text{ gram} \times 20 \text{ g bb}}{0,2 \text{ ml}}$$

$$= 15 \text{ mg/ml}$$

$$= 1500 \text{ mg/100 ml}$$

$$= 1,5 \text{ g/100 ml}$$

$$= 1,5\%$$

3.7 Tahap Pengujian

1. Hewan percobaan (mencit) diaklimatisasi selama 7 hari sebelum diberi perlakuan.
2. Hewan percobaan dibagi atas 6 kelompok, masing-masing terdiri dari 5 ekor hewan percobaan dengan pembagian kelompok sebagai berikut :

Kelompok I : Kontrol negatif diberi pembawa yaitu suspensi Na.CMC 0,5%.

- Kelompok II : Kontrol positif, kelompok yang diberikan penginduksian aloksan 150 mg/kg BB.
- Kelompok III : Mencit putih jantan hiperglikemia dan diberi suspensi fraksi polar daun senduduk dengan dosis 100 mg/Kg BB.
- Kelompok IV : Mencit putih jantan hiperglikemia dan diberi suspensi fraksi polar daun senduduk dengan dosis 200 mg/ Kg BB.
- Kelompok V : Mencit putih jantan hiperglikemia dan diberi suspensi fraksi polar daun senduduk dengan dosis 300 mg/Kg BB.
- Kelompok VI : Pembanding, diberi suspensi glibenklamid dengan dosis 0,013 mg/20 g BB.

3. Berat badan hewan percobaan ditimbang, kemudian hewan percobaan dipuasakan selama 16 jam dan diperiksa kadar glukosa darah puasanya.
4. Kemudian hewan percobaan diinduksi dengan aloksan dosis 150 mg/Kg BB secara intraperitoneal (kecuali untuk control negatif) diberikan sekali sehari selama 3 hari.
5. Sediaan uji diberikan secara per oral pada hewan percobaan dengan volume pemberian 1% dari berat badan. Pemberian sediaan uji dilakukan sebanyak 2 kali sehari, dimulai pada hari ke-1 (setelah hewan percobaan dikatakan diabetes) sampai hari ke-14.
6. Pengukuran glukosa darah dilakukan pada hari ke 7 dan 14 dengan menggunakan alat *GlukoDr*®. Pengambilan darah dilakukan pada pembuluh darah ekor hewan percobaan.

3.8 Pengukuran Kadar Glukosa Darah

Pengukuran kadar gula darah menggunakan alat digital sinocare. Tes strip diselipkan di tempat khusus pada alat, kemudian pada layar akan muncul gambar tetesan darah yang menandakan alat siap digunakan. Darah mencit diambil melalui vena ekor (*vena coccygeal*). Ekor mencit disinfektan dengan etanol 70% kemudian baru dipotong, tetesan darah dibuang tetesan berikutnya diserapkan pada strip glukosa darah sampai terdengar bunyi. Dalam beberapa detik pada layar akan muncul kadar glukosa darah dalam mg/dL. Uji dilakukan pada setiap mencit semua kelompok.

3.9 Analisis Data

Analisis data yang diperoleh dari pengukuran kadar gula darah dianalisis secara statistik dengan metode Two Way ANOVA untuk mengetahui adanya perbedaan antar perlakuan. Sebelumnya dilakukan uji normalitas dan homogenitas terhadap data yang diperoleh. Apabila data normal dan homogen, maka dapat dilakukan uji lanjut ANOVA. Apabila ada perbedaan antar kelompok perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji Duncan untuk mengetahui adanya kelompok perlakuan lainnya. Untuk data yang tidak homogen maka akan dilakukan uji non parametric Kruskal-Wallis Test dan dilanjutkan dengan uji Mann - Whitney Test dengan taraf kepercayaan $p < 0,05$.